

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**LETÍCIA MADEIRA ROSA**

**ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO  
HIDROXILASE 2 (TPH2) COM A DEPRESSÃO**

**São Gabriel**

**2015**

**LETÍCIA MADEIRA ROSA**

**ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO  
HIDROXILASE 2 (TPH2) COM A DEPRESSÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Campus São Gabriel, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Andrés Delgado Cañedo

Coorientadora: Samara Marques dos Reis (Mestranda em Bioquímica – UNIPAMPA campus Uruguaiana/RS)

**São Gabriel**

**2015**


**LETÍCIA MADEIRA ROSA**

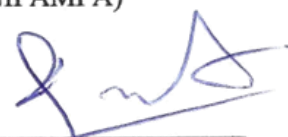
**ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO  
HIDROXILASE 2 (TPH2) COM A DEPRESSÃO**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Campus São Gabriel, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 23 de Janeiro de 2015:

Banca examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Andrés Delgado Cañedo  
Orientador  
(UNIPAMPA)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Analía Del Valle Garnero  
(UNIPAMPA)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Cháriston André Dal Belo  
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho aos meus Pais, Maria Elaine e Liberomar que graças a eles consegui chegar até aqui. Sempre estiveram ao meu lado, me incentivando, me apoiando e me dando forças para alcançar meus objetivos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus, pois graças a ele tive a oportunidade de entrar na graduação, conheci pessoas muito especiais que foram essenciais na minha formação, compartilhando momentos únicos e inesquecíveis.

Aos meus pais, meus avós e minha família que sempre acreditaram no meu potencial, me incentivaram a sempre dar o melhor de mim, e nunca desistir dos meus objetivos e sonhos. Com muito carinho e o apoio incondicional de todos eles, nunca mediram esforços para que eu chegasse a esta etapa da minha vida.

Ao meu professor Andrés Delgado, por ser meu orientador, transmitindo seus conhecimentos, ensinamentos, imensa paciência, disponibilidade, pela confiança, atenção e por me proporcionar sua amizade que com certeza levarei para sempre.

A minha companheira de trabalho Samara Marques, que sempre esteve do meu lado me ajudando no aprendizado, dividindo seu conhecimento, disponibilizando parte do seu tempo sempre que preciso, pela amizade e companheirismo por ela disposto.

Aos professores do curso bacharelado em biotecnologia, pelas brincadeiras, momentos de descontração, amizade, conhecimentos, pela total contribuição em minha formação, pela paciência e momentos vividos, que jamais serão esquecidos.

As colegas e amigas que conheci na graduação, Fabíola, Linna, Polyana e Talita, por me proporcionarem suas amizades, alegria, brincadeiras, estudos, descontração. Por me ajudarem a chegar até aqui, me incentivando e estando sempre ao meu lado. Amizade esta que desejo que permaneça para sempre, onde quer que estejamos.

Ao companheiro de jornada Dionatan, que acompanhou cada passo do meu esforço, noites de estudos, ao estresse, pelo cansaço ao longo da graduação, pela sua compreensão, amizade e carinho.

Aos demais colegas da graduação e amigos, pelos momentos de risos soltos, pelo amadurecimento em conjunto, pelas brincadeiras, pelos diálogos e pelas trocas de informações.

Todos foram essenciais em linhas e entrelinhas para que tudo isso se tornasse possível.

Meu muito obrigada a todos vocês!

“Sem sonhos, a vida não têm brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridades, os sonhos não se tornam reais. Sonhe, trace metas, estabeleça prioridades e corra riscos para executar seus sonhos. Melhor é errar por tentar do que errar por omitir!”

Augusto Cury

## RESUMO

Estudos de associação gene-doença demonstram uma relação entre Triptofano Hidroxilase 2 (TPH2) e a depressão em diferentes populações. Entretanto, alguns estudos não demonstram essa relação. Sendo a TPH2 uma enzima limitante da taxa na via sintética para a serotonina do cérebro, vários estudos relatam os polimorfismos da enzima TPH2. Dois grandes projetos, o HapMap e o 1000 genomas, organizam a maioria dos polimorfismos a partir do estudo de várias populações disponibilizando estes dados. Este trabalho tem como objetivo desenvolver um método de estudo para obtenção de possíveis marcadores de predisposição a doença a partir da correlação entre os dados epidemiológicos e as frequências populacionais de polimorfismos. Este estudo está baseado na hipótese de que se numa população existe maior frequência de uma determinada patologia determinada geneticamente, então as variantes envolvidas deveriam estar em maior frequência e vice-versa. O modelo usado foi o envolvimento de variantes do gene TPH2 na predisposição à depressão. Os dados obtidos com correlação positiva em um dos genótipos homozigotos e também no alelo deste homozigoto sugeriram a presença de 10 polimorfismos (14,49% do total) possivelmente envolvidos no desenvolvimento do processo depressivo. Estes dados foram comparados com dados da literatura envolvendo estudos do tipo caso controle. Nestes trabalhos foram estudados 20 dos 69 polimorfismos descritos para o gene TPH2. Com exceção de um único polimorfismo, todos os dados obtidos com a nossa estratégia apresentaram-se iguais aos dados da literatura, inclusive quanto ao alelo que determinaria a predisposição à depressão, quando demonstrada associação. Portanto, propomos esta estratégia como uma forma alternativa de se realizar estudos do tipo *Genome-Wide Association* sem a necessidade de estudos caso-controle, apenas usando dados epidemiológicos da doença, diminuindo o tempo e custo destes estudos.

Palavras-chave: Polimorfismo, TPH2 e depressão.

## ABSTRACT

Disease-gene association studies reported a relation between the Tryptophan Hydroxylase 2 (TPH2) and depression in different populations. However, some studies do not demonstrate this relationship. Being TPH2 a limiting enzyme in the rate of synthetic route of serotonin in the brain, many studies reported the polymorphisms of the TPH2 enzyme. Two huge projects, HapMap and 1000 genomes, organized the major part of these polymorphisms from the study of several populations becoming these data available. This work is aimed to develop a system to obtain possible predisposition markers of a disease from the correlation between epidemiological data and population frequencies of polymorphism. This study is based in the hypothesis that if in a population there is more frequency of a certain kind of pathology genetically determined, the variables involved should be more frequent and vice-versa. The model used was the involvement of variables of the TPH2 gene in the predisposition of depression. The data obtained with positive correlation in one of homozygous genotypes and in the allele of this homozygous suggested the presence of 10 polymorphisms (total 14,49%) possibly related to the development of depression. These data were compared to the literature involving case-control studies. In this work were studied 20 from 69 polymorphisms described to the TPH2 gene. With the exception of only one polymorphism, all the data obtained through the strategy proposed in here was similar to the literature, including the allele that is determinant to the predisposition of depression, when it is demonstrated the association. Therefore, we have proposed this strategy as an alternative to realize this kind of *Genome-Wide Association* studies without the necessity of a case control study, only using the epidemiological data from the disease, decreasing the time and the cost of this study.

Key-words: polymorphs, TPH2 and depression.



## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO

TABELA 1 - Estudos de caso-controle na literatura sobre a associação entre o polimorfismo TPH2 e depressão..... 22

TABELA 2 - Correlação de Pearson entre a população de bancos de dados Polimorfismo TPH2 (HapMap e 1000 genomas) contra índices de prevalência mundial da depressão relacionada com as populações..... 25

## **LISTA DE FIGURAS**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Figura 1. Envolvimento de neuroceptores e neurotransmissores no processo da patologia depressiva.....	6
Figura 2. Estrutura química da serotonina .....	7
Figura 3. Exemplos de alguns alimentos ricos em triptofano.....	8
Figura 4. Biossíntese da serotonina.....	9

### **MANUSCRITO**

Figura 1. Fluxograma dos procedimentos utilizados na coleta dos dados .....	33
-----------------------------------------------------------------------------	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Depressão.....	3
2.2. Serotonina .....	7
2.3. Polimorfismos: conceito e organização em bancos de dados.....	9
2.4. Polimorfismos no gene da enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH2).....	11
3. JUSTIFICATIVA.....	12
4. OBJETIVOS.....	13
4.1. Objetivo Geral.....	13
4.2. Objetivos Específicos.....	13
5. MANUSCRITO .....	14
6. CONCLUSÃO .....	34
7. PERSPECTIVAS .....	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
9. ANEXOS.....	41

## **APRESENTAÇÃO**

O presente trabalho de conclusão de curso de bacharel em biotecnologia foi dividido em três partes principais:

A parte I refere-se a INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, JUSTIFICATIVA e OBJETIVOS.

Na parte II do trabalho encontra-se o item MANUSCRITO, que consiste do artigo científico. O manuscrito está apresentado da mesma forma que será submetido à Revista Plos One.

Na parte III citada no trabalho, situa-se o item CONCLUSÃO, apresentando interpretações e comentários sobre o resultado mostrado no manuscrito deste trabalho, o item PERSPECTIVAS, onde está exposto o possível estudo para dar continuidades a este trabalho e o item REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS refere-se somente às citações que aparecem nos itens introdução e revisão bibliográfica da parte I.

Devido ao grande tamanho das tabelas que contem os dados dos polimorfismos nas diferentes populações, as mesmas são oferecidas em formato digital no CD que acompanha este trabalho.

## PARTE I

### 1. INTRODUÇÃO

A depressão é uma das doenças psiquiátricas mais comuns, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é considerada a 5ª maior questão de saúde pública, sendo considerada uma das maiores causas de incapacidade. Atualmente ela afeta cerca de 350 milhões de pessoas, afetando mais mulheres do que homens. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012).

Estima-se que até 2020 poderá ser uma das doenças mais comuns, sendo a segunda maior causa de incapacitação de pessoas (MURRAY et al, 1996). Estudo recente mostrou que transtornos depressivos são uma das principais causas de doenças psiquiátricas. (FERRARI et al; 2010)

O indivíduo depressivo apresenta sintomas como: tristeza, alterações repentinas do humor, perda de interesse na vida e em atividades que anteriormente costumava realizar, perda de prazer, baixa autoestima, sentimento de culpa, distúrbios no sono, perda de apetite, sensação de cansaço, falta de concentração e angústia profunda (TSAI et al, 2009 ; FERRARI et al, 2010 ; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

A depressão pode ter origem familiar, sendo que sua herdabilidade tem um alto componente genético. Apresenta ainda, componente ambiental e, ambos componentes atuam de forma sinérgica, nunca isoladamente. (SULLIVAM et al, 2000).

Sabe-se que a depressão apresenta um caráter endógeno, de origem interna através de alterações nos neurotransmissores, mas, também dispõe de um caráter ambiental reativo, onde o ambiente pode proporcionar o desencadeamento de um quadro depressivo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Entre os fatores genéticos encontram-se mutações em genes envolvidos com a produção ou captação de neurotransmissores e neuroreceptores, envolvidos no sistema serotoninérgico (WURTMAN et al, 2005). Há um grande interesse no estudo dessa doença, tanto pelos fatores que possam estar envolvidos quanto pela complexidade que esta patologia apresenta (XU et al, 2013).

Os neurotransmissores de maior interesse para o comportamento são divididos em duas amplas categorias: catecolaminas, que incluem a dopamina (DA), noradrenalina (NA) e Adrenalina (AD) e Indolaminas incluindo histamina e serotonina (5HT) (ALVARENGA, 2010).

A serotonina é um dos principais neurotransmissores atuante no Sistema Nervoso Central e desempenha um papel extremamente importante e fundamental na psiquiatria de distúrbios mentais (GAO et al, 2012). Acredita-se que ela controle o sono e o humor dos indivíduos (GUYTON et al, 1998). É sintetizada a partir do triptofano, que é um aminoácido aromático essencial para o organismo, sendo encontrado em alimentos de origem animal (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004).

A transformação do triptofano para serotonina ocorre, quando o triptofano é hidroxilado resultando em 5-hidroxitriptofano, posteriormente ocorre uma descarboxilação resultando em 5-hidroxitriptamina (5HT ou serotonina) (GROPPER et al, 2008).

A enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH2) é a enzima limitante na via da síntese da serotonina, ela modifica o triptofano (ZILL et al, 2007 ; ZHANG et al, 2011). É considerada como o fator chave para manter os níveis normais de serotonina no cérebro (GAO et al, 2012).

Estudos relatam a associação de polimorfismos destes genes com doenças depressivas (VAN DEN BOGAERT et al, 2006 ; SHEN et al, 2011 ; GAO et al, 2012 ; GOENJIAN et al, 2012).

Além dos dados populacionais obtidos de estudos do tipo caso-controle, as frequências dos polimorfismos de TPH2 podem ser estudadas em várias populações a partir dos dados de grandes projetos que fornecem e organizam dados de polimorfismos no genoma humano como o HapMap ou o 1000 genomas. O projeto 1000 genomas é um consórcio internacional lançado para explorar variações genéticas em populações, incluindo polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), variantes estruturais e contextos de haplótipos (1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM, 2010).

O projeto HapMap é um projeto que foi desenvolvido para identificar e catalogar as semelhanças e diferenças genéticas nos indivíduos (The International HapMap Project, 2003).

Projetos como 1000 genomas e HapMap são importantes em estudos, devido ao fato de fornecerem frequências alélicas, genotípicas e haplótipos de SNPs que podem estar envolvidos em doenças ou não. No caso das doenças que possam causar um grande impacto na população, como é o caso da depressão, é importante se obter essas frequências para realizar estudos visando um melhor diagnóstico, tratamento e progressão da doença.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Depressão

A depressão é uma psicopatologia que causa um sentimento de tristeza, sofrimento e desesperança profunda, podendo durar meses ou até anos. Faz com que o indivíduo doente perca a vontade de viver, perdendo assim o interesse pela vida. O indivíduo que é afetado pela depressão já não consegue mais realizar tarefas individuais, e anteriormente à doença, conseguia realizar. Também pode envolver aspectos físicos, como distúrbios no sono (TSAI et al, 2009 ; FERRARI et al, 2010 ; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Segundo a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CID-10), a depressão pode ser caracterizada em dois tipos:

#### *-F32- Episódios depressivos*

Em episódios ocorridos de cada um dos três graus de depressão (leve, moderado ou grave), o paciente apresenta uma diminuição brusca do humor, diminuição da sua capacidade de concentração, diminuição da energia disponível e fadiga acentuada.

Dentre demais sintomas, apresentam também: distúrbios no sono, idéias de culpa ou de indignidade, diminuição do apetite e da autoestima, alterações de humor.

Dependendo das circunstâncias, os demais sintomas podem ser acompanhados de outros sintomas ditos “somáticos”, como: agitação, perda de apetite, perda de peso e da libido, perda de interesse ou prazer, despertar matinal precoce (várias horas antes da hora habitual de acordar), agravamento matinal da depressão, lentidão psicomotora importante.

Inclui: episódios isolados de (um) (uma):

- depressão:
- psicogênica
- reativa
- reação depressiva

Exclui: quando associados com transtornos de conduta em F91.- (F92.0) transtornos (de):

- adaptação (F43.2)
- depressivo recorrente

### *F33 Transtorno depressivo recorrente*

Caracteriza-se pela ocorrência repetida de episódios correspondentes à descrição de um episódio depressivo (F32) na falta prévia de episódios independentes de exaltação de humor e de aumento de energia. O transtorno pode, contudo, comportar breves episódios caracterizados por uma alteração (aumento) de humor e da atividade (hipomania), ocorrendo seguidamente a um episódio depressivo, e devido a um tratamento antidepressivo.

As formas mais graves do transtorno depressivo recorrente (F33.2 e F33.3) apresentam numerosos pontos comuns com os conceitos anteriores da depressão maníaco-depressiva, melancolia, depressão vital e depressão endógena. O episódio inicial pode acontecer em qualquer idade, sendo que a duração pode variar de algumas semanas a alguns meses.

Se um episódio maníaco acontecer, em decorrência de um já acontecido anteriormente, o diagnóstico deve ser alterado pelo de transtorno afetivo bipolar (F31).

Inclui: episódios recorrentes de uma:

- Depressão
- Psicogênica ou Psicogenia
- Reativa
- reação depressiva

Exclui: episódios depressivos recorrentes breves (F38.1).

A 4ª edição do *Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais* (DSM-IV-TR) da Associação Psiquiátrica Americana (APA, 2000) situa a depressão nas categorias *transtorno bipolar* e *transtorno depressivo*, este incluindo a depressão maior, com episódios únicos e recorrentes, e as distimias (SILVA, 2006).

O *transtorno bipolar*, conhecido antes como psicose maníaco-depressiva abrange os subtipos I (quando há a presença de, pelo menos um episódio de mania, podendo ocorrer ou não depressão) e II (quando ocorrem hipomanias com ou sem depressão), os episódios mistos, o transtorno ciclotímico e os transtornos de humor secundários a doenças médicas, ao uso de medicamentos ou ao uso/abuso de drogas (SILVA, 2006).

As manias e hipomanias (mais leves) correspondem a períodos de anormalidades e contínuas alterações de humor, como euforia ou irritabilidade que duram pelo menos 7 e 4



dias, respectivamente, e estão associadas a, pelo menos três outros sintomas, como aumento exagerado da auto-estima, diminuição da necessidade de dormir, logorréia, hiperatividade, entre outros (SILVA, 2006).

Entende-se por transtorno misto a presença concomitante da depressão e mania ou uma alternância rápida de ambas, com duração mínima de 1 semana. A distímia e a ciclotímia são alterações persistentes do humor, sendo a primeira depressão leve, crônica de pelo menos 2 anos de duração, e a segunda, transtorno caracterizado por flutuações rápidas entre hipomania e depressão leve, intercaladas por períodos breves de normalidade (SILVA, 2006).

A depressão é umas das doenças psiquiátricas mais comuns, apresentando prevalência de aproximadamente 5% na população em geral. Entretanto, ao longo da vida, a prevalência pode chegar a 20%. O risco para Transtornos depressivos maiores (TDM) varia de 10 a 25% para mulheres e de 5 a 12%, para homens durante a vida em amostras comunitárias (WEISSMAN et al., 1996). A incidência da depressão está aumentando cada vez mais e, a faixa etária de acometimento diminuindo (WONG & LICINIO, 2001).

Os transtornos depressivos causam sofrimento nos indivíduos e em alguns casos podem ameaçar à vida (HAMET & TREMBLAY, 2005). É considerada a principal causa mundial de incapacidade em indivíduos, sendo reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos maiores problemas de saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

No Brasil, estima-se que existem cerca de 13 milhões de pessoas com transtornos depressivos. Segundo projeções futuras, baseadas em estudos, acredita-se até 2030 poderá ser uma das doenças mais prevalentes no planeta, ficando somente à frente do câncer e de algumas doenças infecciosas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012).

É muito importante ressaltar que, pacientes que são portadores da depressão, na maioria das vezes, tentam suicídio. Estima-se que 85 a 90% das vítimas de suicídios, apresentam algum distúrbio psiquiátrico, sendo a depressão o distúrbio mais frequente (Organização Mundial de Saúde, 2001).

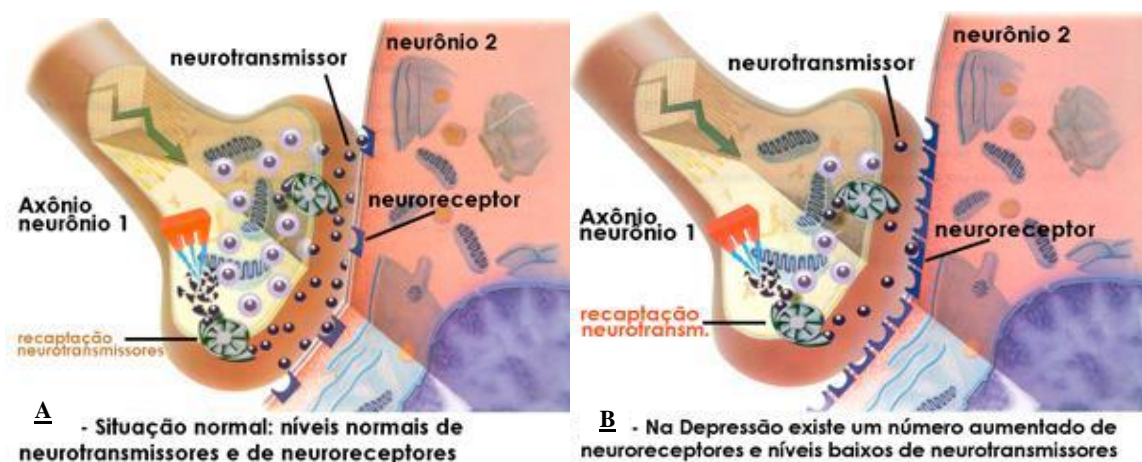
A depressão representa um conjunto heterogêneo de desordens de diversas causas, como fatores biológicos, sócio-culturais e psicológicos (KALIA, 2005). Os fatores genéticos envolvidos na depressão também são muito importantes, visto que episódios recorrentes associam-se à agregação familiar (EBMEIER et al., 2006).

A agregação familiar pode ser explicada pelo fato de que membros de uma mesma família compartilham sua informação genética e estão expostos aos mesmos fatores ambientais, e de que quanto mais comum a doença na população maior a probabilidade da

agregação familiar (THOMPSON E THOMPSON, 2008). Poderiam predispor à depressão, afetando a neurotransmissão através do aumento ou da diminuição na produção, liberação, ação ou duração da atividade do neurotransmissor serotonina, como mostra a Figura 1 (WURTMAN, 2005).

Fatores ambientais também podem predispor à depressão, como por exemplo, problemas com dívidas, perda de algum ente querido, término de um relacionamento, dentre outros. No entanto, a depressão resulta de fatores ambientais e genéticos, visto que estes não atuam de maneira isolada, mas em conjunto (SULLIVAM et al, 2000).

Figura 1. Envolvimento de neuroceptores e neurotransmissores no processo da patologia depressiva. Na figura A observa-se a situação numa condição normal, e na figura B durante um episódio de depressão.



Adaptado de: <http://www.psiqweb.med.br/site/?area=NO/LerNoticia&idNoticia=153>

Considerada uma psicopatologia, a depressão, é causada por alterações bioquímicas nos neurotransmissores, sendo que uma destas, é a diminuição do neurotransmissor serotonina (PAIM, 1994). Entretanto, é uma patologia ainda em estudo, devido à sua complexidade e fatores que possam estar envolvidos (XU et al, 2013).

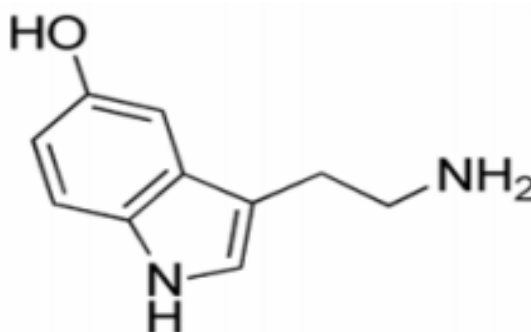
## 2.2 Serotonina

No sistema nervoso existem vários neurotransmissores atuantes. Estes neurotransmissores podem ser divididos em grandes grupos, como por exemplo, os aminoácidos (glutamato, GABA, glicina), as aminas (serotonina, dopamina, adrenalina...), acetilcolina, opióides etc (SILVA, 2006).

As catecolaminas e a serotonina são os neurotransmissores responsáveis por mediar as emoções, sendo os fármacos que agem estes sistemas agentes reguladores das emoções e por esse motivo suscetível a abuso (drogas como cocaína por exemplo). Catecolaminas são formadas pelos neurotransmissores Dopamina, Norepinefrina e Epinefrina (Adrenalina). Estas três substâncias estão em uma rota sintética comum, partindo do aminoácido tirosina, que é transformado em L-DOPA e nos neurotransmissores citados acima, na respectiva ordem. A serotonina é uma amina derivada do aminoácido triptofano (SILVA, 2006).

A serotonina é um dos principais neurotransmissores do sistema nervoso central e, apresenta um papel extremamente importante nas funções cerebrais, também é um neurotransmissor importante em muitas doenças psiquiátricas como a depressão, autismo, esquizofrenia, e em ações como a agressão e comportamento suicida, os quais estão diretamente relacionados com a disfunção serotoninérgica no sistema nervoso central (VEENSTRA et al, 2000 ;WALTHER et al, 2003 ; LESCH, 2004). Acredita-se que a serotonina atue como inibidor das vias da dor e tenha um papel fundamental no controle do sono e do humor dos indivíduos (GUYTON et al, 1998).

Figura 2. Estrutura química da Serotonina



Nem todos os neurônios sintetizam a serotonina. Para que haja, é necessário o transporte do triptofano da corrente sanguínea para o cérebro. O triptofano é um aminoácido essencial para o organismo, adquirido pela via alimentar (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004). Ele é encontrado em alimentos de origem animal e laticínios, como por exemplo, queijo, chocolates, derivados do leite e carne principalmente.

Figura 3. Exemplos de alguns alimentos ricos em triptofano.

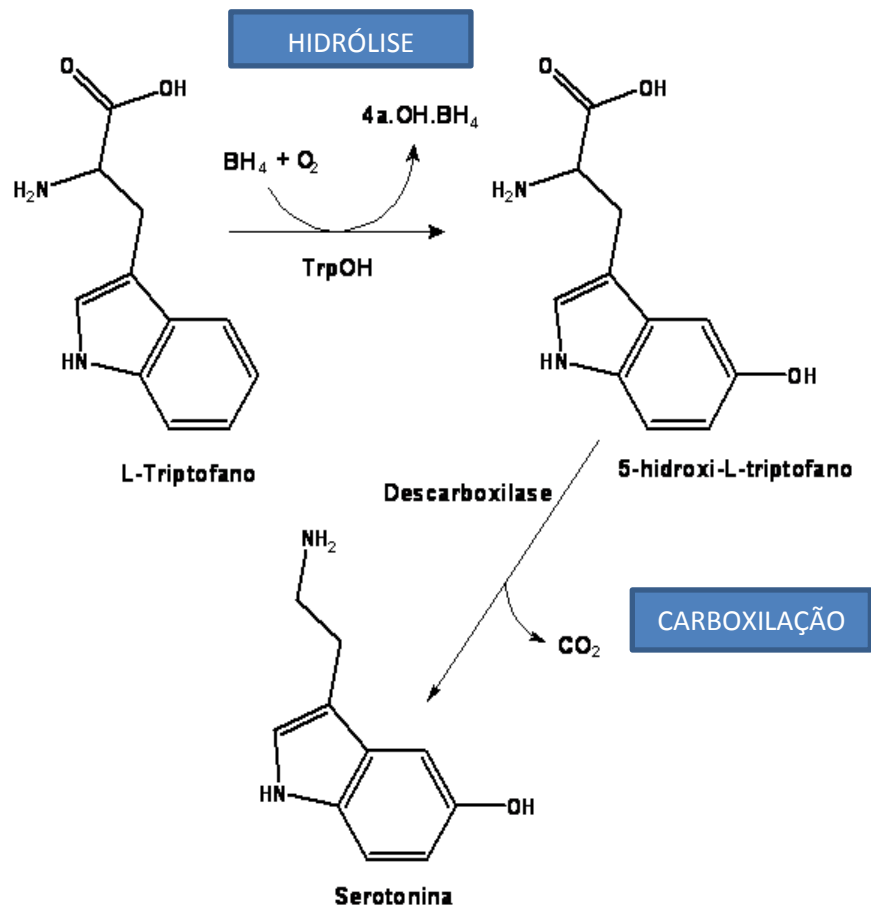


Fonte: <http://www.vitasport.com.br/blog>

O transporte do triptofano para o cérebro não se relaciona somente com a concentração sanguínea, mas também com sua concentração em relação a aminoácidos neutros. Sendo assim, concentrações baixas de triptofano no dia-a-dia são associadas ao consumo elevado de aminoácidos que competem com o triptofano pelo transporte, através da barreira hematoencefálica, havendo assim uma redução do conteúdo de 5-HT no cérebro, provocando alterações de certos comportamentos que estão associados a serotonina (BRADY et al, 2005 ; BICALHO et al, 2007).

Os neurônios serotoninérgicos contêm a enzima Triptofano Hidroxilase 2 (TPH2) que converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP), sendo este um passo limitante na via da síntese da serotonina (ZILL et al, 2007, ZHANG et al, 2011). A conversão do triptofano em serotonina ocorre, quando é hidroxilado, resultando em 5-hidroxitriptofano, e posteriormente é descarboxilado resultando em 5-hidroxitriptamina (serotonina), como mostra a figura 4. (GROPPER et al, 2008).

Figura 4. Biossíntese da Serotonina



Fonte: [http://neurotransunb.blogspot.com.br/2011\\_05\\_01\\_archive.html](http://neurotransunb.blogspot.com.br/2011_05_01_archive.html)

Até o ano de 2003, apenas um único gene de TPH havia sido descoberto, TPH1, que é expresso no sistema periférico. No ano de 2003, foi identificado um segundo gene de TPH, chamado TPH2, que é expresso predominantemente no sistema nervoso central, mais precisamente no cérebro (WALTHER et al, 2003)

### 2.3. Polimorfismos: conceito e organização em bancos de dados

O conjunto de genes e a sequência de nucleotídeos que o DNA apresenta são muito similares dentro de uma espécie, porém em determinadas regiões do cromossomo, podem

haver variabilidade na sequência do DNA. Se esta variação for superior a uma frequência de 1% da população, é chamada de polimorfismo (BALASUBRAMANIAN et al, 2004).

Aproximadamente 90% dos polimorfismos são de nucleotídeo único (SNPs), carregando apenas uma substituição de bases. Polimorfismos podem apresentar deleções, inserções, ou alteração de uma ou mais bases (BALASUBRAMANIAN et al, 2002).

Alguns polimorfismos podem apresentar algum efeito sobre a regulação e expressão de alguns genes ou na função da proteína codificada, embora a maioria dos polimorfismos sejam funcionalmente neutros. Esses polimorfismos funcionais, embora apresentem baixa penetrância, poderiam contribuir para as diferenças entre indivíduos, na susceptibilidade e gravidade de algumas doenças (BALASUBRAMANIAN et al, 2002).

Os polimorfismos podem ser transmitidos juntamente com outros genes que estejam localizados em uma região cromossômica próxima a eles, dessa forma podem vir a atuar como marcadores genéticos. Podem ocorrer em sequências codificadoras e não-codificadoras, podendo provocar alterações quantitativas ou qualitativas nas proteínas (ROCHA et al, 2007).

Com a criação dos bancos de dados, onde são organizados vários polimorfismos, tornou-se mais fácil realizar pesquisas por polimorfismos, estudá-los e compará-los entre diversificadas populações, a fim de verificar diferenças e similaridades genéticas entre indivíduos de várias etnias.

Pode-se ainda, estudar polimorfismos envolvidos em doenças, que causem um grande impacto na população como é o caso a depressão, visando um diagnóstico precoce, tratamento e até a progressão. Esses projetos que disponibilizam os polimorfismos, dispõem de frequências alélicas, genotípicas e haplótipos de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) nas populações.

Lançado em 2008, o projeto 1000 genomas é o primeiro projeto onde foi sequenciado o genoma de um grande número de indivíduos, pelo menos mil pessoas, a fim de fornecer um recurso extremamente abrangente sobre a variação genética humana. Tem por objetivo encontrar a maioria das variantes genéticas que possuir frequências de pelo menos 1% nas populações estudadas, encontrar frequências genotípicas e fornecer os haplótipos corretamente de todos os polimorfismos do DNA humano em diferentes populações (ALTSHULER, et al, 2005 ; 1000 Genomes Project Consortium, 2010).

Através do 1000 genomas, pode-se ainda realizar a comparação de frequências alélicas e analisar criteriosamente desequilíbrios de ligação. Apoiar estudos de associação genômica ampla e estudos de investigação médica (ALTSHULER, et al, 2005 ; 1000 Genomes Project Consortium, 2010 ; ABECASIS et al, 2012).

O projeto HapMap desenvolvido em 2002, foi criado a partir do sequenciamento do genoma humano e, têm por objetivo guiar pesquisas e análises de estudos baseados em variações genéticas. Trata-se de um banco de dados público, onde estão armazenados os polimorfismos mais comuns do genoma humano, tornando possíveis estudos do tipo *genome-wide association* (GWA) (The International HapMap Project, 2003).

O HapMap apresenta haplótipos definidos de diferentes indivíduos e, tem por objetivo principal comparar suas sequências genéticas para identificar regiões cromossômicas em que variantes genéticas são compartilhadas. Auxilia pesquisadores e biomédicos a encontrar genes envolvidos em doenças e em respostas a tratamentos (The International HapMap Project, 2003 ; CARR et al, 2014).

Projetos como 1000 genomas e HapMap são importantes em estudos, devido ao fato de fornecerem frequências alélicas, genotípicas e haplótipos de SNPs que podem estar envolvidos em doenças ou não. No caso das doenças, que possam causar um grande impacto na população, como é o caso da depressão, é importante se obter essas frequências para realizar estudos com objetivo de melhorar os diagnósticos, tratamentos e evolução da doença em questão.

Como os humanos são idênticos em 99,5% é fundamental conhecer o restante do 0,5%, onde se encontram as diferenças que fazem com que uma pessoa seja mais suscetível do que outra a determinada doença. Pode parecer pouco, mas este 0,5 % corresponde a mais de 10 milhões de variações (ALTSHULER et al, 2005)

#### **2.4. Polimorfismos no gene da enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH2)**

O gene da enzima triptofano hidroxilase, pode ser encontrado em dois genes diferentes: TPH1 e TPH2. TPH1 é expresso principalmente em tecidos periféricos e a TPH2 predominantemente nos neurônios (WALTHER et al, 2003 ; BICALHO, 2007 ; ZHANG et al., 2011). A enzima TPH2 é sintetizada nos corpos celulares dos neurônios serotoninérgicos, sendo encontrada apenas em neurônios que sintetizam a serotonina.(BICALHO, 2007).

A enzima TPH2 é a principal enzima limitante na via da síntese da serotonina, ela realiza a modificação do triptofano até que seja convertido em serotonina (CHICHON et al, 2008), sendo considerada o fator chave para regular os níveis normais de serotonina no cérebro (ZILL et al, 2007 ; ZHANG et al, 2011 ; GAO et al, 2012).

Vários estudos relatam à associação de polimorfismos do gene da enzima TPH2 com doenças depressivas, portanto vêm se tornando um gene candidato para estudos de uma grande variedade de fenômenos comportamentais (VAN DEN BOGAERT et al, 2006 ; SHEN et al, 2011 ; GAO et al, 2012 ; GOENJIAN et al, 2012).

Em um estudo realizado em populações brasileiras, onde houve a investigação de variações genéticas deste gene, os autores averiguaram a associação de oito SNPs com a depressão de início tardio. A pesquisa consistiu na análise de 84 pacientes ambulatoriais com depressão e 79 indivíduos do grupo controle. Os resultados indicam uma associação entre o genótipo C/T do SNP rs4565946 e a diminuição do risco de desenvolver a depressão tardiamente. No SNP rs11179000 os resultados demonstraram que o homozigoto AA e o alelo A aumentaram o risco de depressão tardiamente (PEREIRA et al, 2011).

Outro estudo realizado em uma população de etnia coreana, pesquisando polimorfismos do gene TPH2, encontrou-se alelos significantes para a depressão. Foi observada significância no alelo G do SNP rs4570625 e no alelo A do SNP rs10748185, sugerindo uma associação expressiva desses polimorfismos com a depressão (SERRETI et al, 2011).

Procurando encontrar associação entre SNPs de TPH2 e a depressão maior em uma população chinesa, outra pesquisa demonstrou associação entre o SNP rs17110747 e a depressão maior, mostrando associação significativa do alelo G com a doença. Contudo, nem todos os SNPs do gene TPH2 apresentaram associação com a depressão (TSAI et al, 2009).

### **3. JUSTIFICATIVA**

Levando-se em consideração que indivíduos com predisposição genética para qualquer doença podem não apresentar os sintomas, devido a não exposição a fatores ambientais.

As populações com altos níveis de prevalência da doença em questão deveriam então apresentar altas frequências de alelos ou genótipos envolvidos nesta predisposição e, por este motivo estudos de correlação entre dados populacionais de polimorfismos genéticos e prevalência da doença a ser estudada poderia detectar alvos interessantes a serem estudados.

Para testar esta hipótese foi utilizado como modelo a relação entre o gene TPH2 e a depressão baseado nas seguintes características: existem vários trabalhos mostrando a relação entre variantes do gene TPH2 e a depressão; existem dados epidemiológicos mundiais para a



patologia; o gene TPH2 possui um grande número de SNPs e sugere-se que alguns polimorfismos específicos contribuiriam para a predisposição à doença, embora a maioria não demonstre esta associação.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo Geral**

- Desenvolver um método de estudo para a seleção de possíveis marcadores de predisposição a doença a partir de correlação entre os dados epidemiológicos e frequências populacionais de polimorfismos.

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Revisar na base de dados NCBI os polimorfismos do gene TPH2 conhecidos;
- Revisar na literatura polimorfismos do gene TPH2 associados à depressão;
- Procurar na literatura e bases de dados as prevalências populacionais da depressão;
- Tabular as frequências alélicas e genóticas dos diferentes polimorfismos do gene TPH2 em populações descritas nos bancos de dados 1000 genomas e *HapMap*.
- Correlacionar a prevalência de depressão em diferentes populações mundiais com as frequências alélicas e genóticas dos diferentes polimorfismos do gene TPH2 em populações correlatas;
- Relacionar os dados obtidos com os dados da literatura.

## PARTE II

### 5. MANUSCRITO

**Statistical correlation between genetic frequencies data and prevalence of disease data could replace case-control assays for identify susceptibility loci in Genome-wide association studies.**

Samara Marques Dos Reis<sup>1</sup>, Leticia Madeira Rosa<sup>1</sup>, Andrés Delgado-Cañedo<sup>1\*</sup>

**Será submetido à Revista Plos One**



**Statistical correlation between genetic frequencies data and prevalence of disease data could replace case-control assays for identify susceptibility loci in Genome-wide association studies.**

Samara Marques Dos Reis<sup>1</sup>, Leticia Madeira Rosa<sup>1</sup>, Andrés Delgado-Cañedo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Gene Expression Control in Eukaryotes Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brazil

\*Correspondência autor

E-mail: andrescanedo@unipampa.edu.br

## Abstract

It is estimated that the difference between two human beings, when it is compared their genome, do not go beyond 0,5%. This variation extends over the genome and includes, as we know the knowledge about genetic polymorphism. After the finalization of human genome sequencing it was expected understand the role of these polymorphisms in different situations and use it to contribute with the diagnoses and treatments. Two big projects, HapMap and 1000 genomes, organized the major part of these polymorphisms from the study of several populations becoming these data available. Nowadays, these data are used to control the study from Genome-Wide Association, where many polymorphisms are compared in case-control studies. In this work it is shown an alternative to this kind of study where genotypic and frequencies data from several population were analyzed through the Pearson correlation against epidemiological data of a certain kind of pathology. Based in the hypothesis that if in a population there is more frequency of a certain kind of pathology genetically determined, the genetic variants involved should be more frequent and vice-versa. The model used was the involvement of polymorphisms of the TPH2 gene in the predisposition to depression. The data obtained with positive correlation in one of homozygous genotypes and in the allele of this homozygous suggested the presence of 10 polymorphisms possibly related to the development of depression. These data were compared to literature data involving case-control studies. In these works were studied 20 from 69 polymorphisms described to the TPH2 gene. With the exception of only one polymorphism, all the data obtained through the strategy proposed in this work have been equals to the literature data, including the allele that is determinant to the predisposition of depression, when it is demonstrated the association. Therefore, it is proposed this strategy as an alternative to carry out Genome-Wide Association studies without the necessity of a case-control study, only using the epidemiological data from the disease, decreasing the time and the cost of the study.

Key-words: polymorphs, TPH2 and depression.

## Introduction

The detection and analysis of DNA polymorphisms have modified the studies about human genetic. The major impact of polymorphism studies is the possibility of identify genetic variants involved in diseases. Also, the polymorphism can be used to distinguish small differences either inside a population or between different populations [1].

Nowadays, population polymorphisms are organized in genetic databases, that are aimed to be a free database to the scientific community. Between these databases we can find the 1000 genome and HapMap projects that provide information about human genetic variants, including single nucleotide polymorphisms (SNPs) and structural variation; also, these projects offer linkage disequilibrium among the genetic variants [2-3].

Through the use of the tools offered by the project mentioned above and also other new databases, it is possible to obtain allelic, genotypic frequencies and haplotypes of different populations around the world.

There are several diseases with monogenic cause, but most diseases have a complex genetic component. Between them are included diseases of great impact in the world population as the depression, for example.

Depression is one of most common psychiatric disease. According to the World Health Organization [WHO], depression is the forth cause of incapacitation around the world, is one of the main contributor for the global burden of disease and affects more than 350 million people of different ages, being more frequent in women than in men [4].

The major depression has a multifaceted etiology with a familial component and it seems to occur as the interaction between genetic and environmental influences that would not act alone, but jointly [5].

Among the proteins related with the depressive process, the serotonin (5-HT or 5-hydroxytryptamine) is one of the most studied. It is a neurotransmitter that modulates the neural activity regulating a wide spectrum of neuropsychiatric processes [6]. It has been associated to the depression main symptoms such as alteration of the humor, appetite, sleep and in cognitive dysfunctions [7].

Serotonin is synthesized from tryptophan (an essential amino acid) through the tryptophan hydroxylase (TPH), this enzyme converts tryptophan into 5-hydroxytryptophan, that is converted to serotonin thereafter. The enzyme TPH2 is localized and stores in vesicles of the axons and dendrites [8].

TPH2 is a limiting in the serotonin synthesis pathway, controlling the synthesis rate in the brain and is considered a key factor for the maintenance of the normal level of serotonin in central nervous system. Experimental studies have suggested association between some SNPs of THP2 and depressive disorders [9-10], although the majority of the studied SNPs did not show this association [11, 12, 13].

Taking in account that: there are vast epidemiologic data about depression for different population around the world; TPH2 enzyme is related to depression; many TPH2 SNPs were studied regarding their association with de depressive process, reporting or not association; and the genotypic and allelic frequencies of TPH2 SNPs are available for several populations.

We analyzed all the known SNPs of TPH2 against epidemiologic depression data based in the follow hypothesis: “If a population has a high prevalence of a particular condition, genetically determined, then the genetic variation involved with this condition must also be high.”

It suggests that Pearson’s correlation test using genotypic frequencies and epidemiologic can be effective for obtain similar data to those determined experimentally.

## **Materials and Methods**

### **Search of TPH2 polymorphisms and their population frequencies**

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) for TPH2 gene was searched in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) “gene” database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/121278>). Subsequently, each of the polymorphisms was used for population data research in Databases from the 1000genomes project [14] and the International HapMap Project [15].

Sample size and allelic and genotypic frequencies of all the available populations were tabulated in Excel datasheets.

### **Data sources, searches and eligibility criteria**

We performed an electronic search in four databases (PubMed, Medline, Google Scholar and SNPedia) from the inception of each database to July 2014. We searched for the following keywords: “TPH2”, “polymorphism” and “depression” at same time. A second search was done using each SNP name in combination with the keyword “depression”.

The articles retrieved were cured in an independent manner by two researchers. It was considered articles that presented data from case-control studies, relating TPH2 gene polymorphisms and depression were considered eligible for this study. Studies without genotypic frequencies were excluded.

For each article selected we recorded the first author, publication year, ethnic group, population size and allelic and genotypic frequencies.

## Statistical analysis

We analyzed the presence or absence of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) in each of the selected polymorphisms, for all populations, using the chi-square test with Degree of Freedom = 1 and  $\alpha = 0.05$ .

Both allelic and genotype frequencies of each population studied by HapMap and 1000 genomes projects were subjected to Pearson's correlation test against the population rates of depression inferred for these populations, obtained from previously published articles [16-17]. Values  $<0.4$  were considered as without correlation and values  $\geq 0.4$  were considered as with correlation, according to suggestions of Taylor [18] and Dancey [19]. The correlation pearson was performed using microsoft excel using specific formulas for the correlation results.

## Results

### Review of TPH2 Polymorphisms

The search for polymorphisms in the gene which codify the TPH2 enzyme has found sixty-nine (69) SNPs (March 2014). These 67 SNPs (97%) were described at 1000 genome database and 57 SNPs (83%) at HapMap project database S1 Table.

Regarding the location, of 69 SNPs 7 were mapped in the potential promoter region (-1000 to -1), 52 SNPs were mapped in intronic regions, 9 SNPs were mapped in exons and 1 SNP were mapped upstream to the transcribed region. 20 of 69 SNPs (30%) have already been studied in depressive patients S2 Table.



## **Systematic review**

The search in databases found two hundred twenty-eight (228) articles that contained the keywords THP2 polymorphism and depression in the text. Of 228 articles, 221 were thereafter excluded.

The exclusion occurred because did not studied depression but others related syndromes such as panic syndrome, schizophrenia, bipolar and unipolar disorder, among others; or because they studied TPH2 polymorphism in depressive patients but they did not present genotypic frequencies or case-control study.

Finally, 7 articles were considered usable for our work. They were realized in 7 populations (Brazilian, Malaysian, Chinese, Korean, European, Asiatic and Finnish).

From the 20 SNPs already studied in depressive patients only 4 SNPs (rs4570625, rs10748185, rs11179000 and rs17110747) presented statistically significant results.

The SNPs rs1386494, rs7305115 and rs17110747 were studied in two publications and rs17110747 was studied in one publication. In the case of rs17110747 one article did not present significance between case and control frequencies.

Data of all polymorphism studied are presented in table 1, which is available following.

**TABLE 1 - Case-control studies in the literature on the association between TPH2 polymorphism and depression.**

<b>SNP</b>	<b>Population</b>	<b>Sample Case/Control</b>	<b>Allele Significant</b>	<b>Authors</b>
rs4131347	European/Asian	324/130	Not significant	Mann et al., 2007
rs4448731	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011
rs4570625	Korean	145/170	Significant Allele G	Serretti et al., 2011
rs10748185	Korean	145/170	Significant Allele A	Serretti et al., 2011
rs4565946	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011
rs11179000	Brazilian	84/79	Significant Allele A	Pereira et al., 2011
rs7955501	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011
rs1386495	Malaysian (Malay, Chinese and Indian)	265/332	Not Significant	Nazree et al., 2013
rs1386494	Malaysian (Malay, Chinese and Indian)	265/332	Not Significant	Nazree et al., 2013
	Finnish	86/395	Not Significant	Lili A. et al., 2009
rs2171363	Chinese	508/463	Not Significant	Tsai et al., 2009
rs1386492	Chinese	508/463	Not Significant	Tsai et al., 2009
rs7305115	Malaysian (Malay, Chinese and Indian)	265/332	Not Significant	Nazree et al., 2013
	Chinese	368/371	Not Significant	Shen et al., 2011
rs11179027	Korean	145/170	Not Significant	Serretti et al., 2011
rs10506645	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011

rs4760820	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011
rs1386498	Korean	145/170	Not significant	Serretti et al., 2011
rs1487275	Brazilian	84/79	Not Significant	Pereira et al., 2011
rs4469933	Korean	145/170	Not significant	Serretti et al., 2011
rs4290270	Chinese	368/371	Not Significant	Shen et al., 2011
rs17110747	Korean	145/170	Not Significant	Serretti et al., 2011
	Chinese	508/463	Significante Allele G	Tsai et al., 2009

## **Correlation between TPH2 polymorphisms and world rate of depression**

To test our hypothesis we used the Pearson's correlation, using allelic and genotypic frequencies of TPH2 SNPs, obtained from HapMap and 1000 genome project, and the depression rate previously published for the region of each population studied by HapMap and 1000 genomes project. The tests suggested correlation ( $r > |0.4|$ ), either positive or negative, in 32 of 66 SNP analyzed, regardless of whether the correlation occurred in allelic frequencies, genotypic frequencies or both. Considering those data with positive correlation, 25 SNPs presented positive correlation only in allelic frequencies, 01 SNPs presented positive correlation only in genotypic frequencies and 10 SNPs presented positive correlation both in allelic and in homozygote genotypic frequencies (Table 2).

It was also studied Hardy-Weinberg equilibrium for each SNP in each population. However, it was not possible to obtain a clear relationship between Pearson correlation coefficients and equilibrium data (Data not shown).

**TABLE 2 – Pearson Correlation between the population databases Polymorphism TPH2 (HapMap and 1000 genomes) against indices worldwide prevalence of depression related to the populations**

SNP	Allele	(r) Allele 1	Allele	(r) Allele2	Genotype	(r) homozygous 1	Genotype	(r) heterozygous2	Genotype	(r) homozygous 2
<b>rs4131347</b>	C	-0.54	G	0.54	CC	-0.63	CG	-0.21	GG	0.47
rs4131348	C	-0.25	T	-0.25	CC	-0.53	CT	-0.16	TT	0.23
rs4448731	C	0.46	T	-0.46	CC	0.25	CT	0.27	TT	-0.37
<b>rs6582071</b>	A	-0.69	G	0.69	AA	-0.64	AG	-0.50	GG	0.63
rs7963803	A	-0.29	C	0.29	AA	0.33	AC	-0.36	CC	0.33
<b>rs4570625</b>	G	0.53	T	-0.53	GG	0.51	GT	-0.43	TT	-0.45
<b>rs11178997</b>	A	-0.53	T	0.53	AA	-0.26	AT	-0.54	TT	0.53
rs11178998	A	0.33	G	-0.33	AA	0.32	AG	-0.32	GG	0.13
<b>rs4641527</b>	G	0.61	T	-0.61	GG	0.47	GT	-0.19	TT	-0.62
rs4341581	G	-0.06	T	0.06	GG	-0.78	GT	-0.13	TT	0.08
rs34115267	C	0.27	G	-0.27	CC	0.11	CG	-0.11	GG	0.00
rs7954758	A	-0.22	G	0.22	AA	-0.13	AG	0.05	GG	0.26
rs10748185	A	0.33	G	-0.33	AA	0.31	AG	0.06	GG	-0.26
rs10784941	A	-0.39	G	0.39	AA	-0.27	AG	0.22	GG	0.18
rs4565946	C	-0.41	T	0.41	CC	-0.30	CT	0.23	TT	0.23
<b>rs11179000</b>	A	0.63	T	-0.63	AA	0.54	AT	-0.38	TT	-0.58
rs11179001	A	0.01	G	-0.01	AA	0.11	AG	0.02	GG	-0.02
rs2129575	G	0.23	T	-0.23	GG	0.22	GT	-0.15	TT	-0.19
rs1386488	A	0.07	C	-0.07	AA	0.00	AC	0.10	CC	-0.35
rs1843809	G	-0.27	T	0.27	GG	-0.37	GT	-0.14	TT	0.21
rs7955501	A	-0.26	G	0.26	AA	-0.23	AG	-0.03	GG	0.11
rs10879346	C	-0.46	T	0.46	CC	-0.42	CT	0.03	TT	0.32
rs1386495	A	0.15	G	-0.15	AA	0.17	AG	-0.08	GG	-0.31
rs1386494	C	0.06	T	-0.06	CC	0.02	CT	0.00	TT	-0.19
rs6582072	A	-0.11	G	0.11	AA	-0.32	AG	-0.03	GG	0.07
rs1386493	A	-0.15	G	0.15	AA	-0.15	AG	-0.12	GG	0.13
rs2171363	C	-0.29	T	0.29	CC	-0.37	CT	0.41	TT	0.13
rs1386492	C	-0.12	T	0.12	CC	-0.11	CT	-0.19	TT	0.05
rs1386491	C	0.07	G	-0.07	CC	-0.37	CG	0.18	GG	-0.11
rs7963720	C	-0.42	T	0.42	CC	-0.51	CT	0.28	TT	0.32
rs17110563	C	-0.05	T	0.05	CC	0.22	CT	0.13	TT	0.13
rs17110566	A	-0.26	G	0.26	AA	-0.46	AG	-0.10	GG	0.15
rs4760815	A	0.15	T	-0.15	AA	0.16	AT	-0.04	TT	-0.14
rs4760816	C	-0.06	T	0.06	CC	-0.11	CT	0.11	TT	0.06
rs7305115	A	-0.05	G	0.05	AA	-0.07	AG	0.03	GG	0.03
rs6582078	G	-0.06	T	0.06	GG	0.01	GT	0.02	TT	0.03
rs11179027	C	-0.06	G	0.06	CC	-0.05	CG	-0.05	GG	0.05

rs4760750	A	-0.15	C	0.15	AA	-0.12	AC	-0.12	CC	0.15
rs1023990	A	0.56	G	-0.56	AA	0.39	AG	-0.14	GG	-0.51
rs10506645	C	0.46	T	-0.46	CC	0.27	CT	0.02	TT	-0.48
rs4641528	C	-0.50	T	0.50	CC	-0.51	CT	0.14	TT	0.36
rs1386497	A	-0.05	C	0.05	AA	-0.05	AC	0.15	CC	-0.20
rs12229394	A	-0.32	G	0.32	AA	-0.38	AG	0.00	GG	0.21
rs4760820	C	-0.45	G	0.45	CC	-0.42	CG	0.45	GG	0.09
rs1352250	A	-0.57	G	0.57	AA	-0.60	AG	0.15	GG	0.38
rs1386498	A	-0.39	G	0.39	AA	-0.48	AG	0.25	GG	0.18
rs1487278	C	0.00	T	0.00	CC	-0.33	CT	0.14	TT	0.00
rs11179039	C	0.43	T	-0.43	CC	0.29	CT	0.04	TT	-0.45
rs1473473	A	-0.27	T	0.27	AA	-0.30	AT	-0.14	TT	0.26
rs1487276	C	0.22	T	-0.22	CC	0.17	CT	-0.08	TT	-0.45
rs10879352	C	0.46	T	-0.46	CC	0.32	CT	0.03	TT	-0.50
rs9325202	A	-0.40	G	0.40	AA	-0.49	AG	0.26	GG	0.26
rs17110690	A	-0.02	G	0.02	AA	-0.10	AG	0.08	GG	0.00
rs10879354	C	-0.46	T	0.46	CC	-0.48	CT	0.24	TT	0.30
rs11179050	A	0.43	G	-0.43	AA	0.32	AG	0.01	GG	-0.45
rs1487275	A	0.21	C	-0.21	AA	0.25	AC	-0.08	CC	0.06
rs1386486	A	-0.31	G	0.31	AA	-0.17	AG	0.01	GG	0.34
rs1386483	C	0.38	T	-0.38	CC	0.35	CT	0.11	TT	-0.28
<b>rs1386482</b>	G	0.55	T	-0.55	GG	0.46	GT	0.05	TT	-0.46
rs10879357	A	-0.09	G	0.09	AA	0.01	AG	-0.14	GG	0.09
rs4469933	C	-0.46	T	0.46	CC	-0.34	CT	-0.17	TT	0.36
<b>rs11615016</b>	A	-0.42	G	0.42	AA	-0.38	AG	0.36	GG	0.59
rs4290270	A	-0.35	T	0.35	AA	-0.36	AT	-0.13	TT	0.33
<b>rs1487280</b>	C	-0.41	T	0.41	CC	-0.41	CT	-0.11	TT	0.41
<b>rs17110747</b>	A	-0.46	G	0.46	AA	-0.36	AG	0.48	GG	0.51
rs1872824	A	-0.39	G	0.39	AA	-0.40	AG	0.27	GG	0.32

(r)- Pearson product-moment correlation coefficient.

Bold SNPs correspond to those that presented positive correlation both in allelic and in genotypic frequencies.

## **Comparison of the correlation results and data previously published**

Of 66 TPH2 SNPs, 20 were included in our study were previously analyzed by others author using case-control studies. When we considered significant only those SNPs that presented correlation positive both in allelic and in genotypic frequencies (genotypes and alleles that predispose people to some disease), our data strongly agree with the data previously published. We had only one exception with rs4131347, located in the promoter region. For this SNP our data suggested positive correlation in the GG homozygote and G allele, while Man and co-workers [12] did not find correlation in a case-control study (data compiled in table 2).

## **Discussion**

From the correlation between prevalence data for worldwide depression and SNPs data for the TPH2 gene in different populations, considering SNPs that presented positive correlated data in some of the homozygotes and one of the alleles, our results suggest the presence of 10 TPH2 SNPs (rs4131347, rs6582071, rs4570625, rs11178997, rs4641527, rs11179000, rs4760820, rs1386482, rs11615016 and rs17110747) correlated with depression, four of these mapping in the potential promoter region.

Among the 10 SNPs selected in our study, four have already been studied in the literature, showing significant relationship with depression, three SNPs showed correlation with the same alleles determined by our method (rs4570625, rs11179000, rs17110747) [13-22-23]. At the same time, the results obtained by studying SNPs rs7955501 [22], rs1386495 [12], rs1386494 [12], rs1386492 [23], rs7305115 [12], rs11179027 [24], rs1487275 [22],

rs4290270 [24] did not show significant difference either in allele and genotype, in agreement with our results that did not show correlation. Thus, the high congruence between our data and the literature gives strength to our hypothesis.

There was only a polymorphism (rs10748185), where the A allele was significant in a survey in Korean [23], disagreeing with our results, which had no correlation between this SNP and depression.

We highlight that there are some TPH2 polymorphism that show genotype positive correlation regarding to the depression, that have not been studied and should be validated for adding data to our results.

Furthermore, it would be interesting that databases that gather information on gene variants in different populations provide a tool to insert epidemiological data for potential targets for future studies, approaching each day over the promises of human genome sequencing. At the same time, to give more strength to the analysis, new populations should be included in the databases.

## **Conclusions**

The data from this study suggest that it is possible to obtain genetic markers associated with specific diseases if data from allelic and genotypic frequencies are statistically analyzed by Pearson correlation test against epidemiological data of these diseases in the populations studied. This type of procedure could be applied to other diseases or other genes potentially involved in the development of the depression.



## References

1. Barreiro LB. Laval G. Quach H. Patin E. Quintana-Murc L. (2008) Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics* 40: 340-345.
2. McVean GA. Altshuler DM. Durbin RM. Abecasis GR. Bentley DT. et al. (2012) An integrated map of genetic variation from 1.092 human genomes. *Nature* 491: 56-65.
3. Daniel F. Carr. Ana Alfirevic and Munir Pirmohamed (2014) Pharmacogenomics: Current State-of-the-Art. *Genes* 5: 430-443.
4. World Health Organization. Depression. Fact sheet N°369 October 2012.
5. Sullivan PF. Neale MC. Kendler KS (2000) Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry* 157: 1552–1562.
6. Berger M. Gray JA. Roth BL. The expanded biology of serotonin (2009). *Annu Rev Med* 60:355–66.
7. Meltzer H. (1998) Serotonergic dysfunction in depression. *Br J Psychiatry Suppl.* 8: 25–31.
8. Ravi V. Jessica J. Tommy L. Nikolaos V. (2011) Tryptophan Transport in Human Fibroblast Cells—A Functional Characterization. *International Journal of Tryptophan Research.* 4: 19–27.
9. Gao J. Pan Z. Jiao F. Li F. Zhao G. et al. Evangelou (2012) - TPH2 Gene Polymorphisms and Major Depression – A Meta-Analysis. *Plos One* 7: 1-5.

10. Goenjian AK. Bailey JN. Walling DP. Steinberg AM. Schmidt D. et al. (2012) Association of TPH1, TPH2, and 5HTTLPR with PTSD and depressive symptoms. *J Affect Disord.* 140 (3): 244-52.
11. Mann JJ. Currier D. Murphy L. Huang Y. Galfalvy H. et al. (2008) No association between a TPH2 promoter polymorphism and mood disorders or monoamine turnover. *J Affect Disord.* 106(1-2): 117–121.
12. Nazree NE. Loke AC. Zainal NZ. Mohamed Z. (2013) Lack of association between TPH2 gene polymorphisms with major depressive disorder in multiethnic Malaysian population. *Asia Pac Psychiatry.*
13. Tsai SJ. Hong CJ. Liou YJ. Yu YW. Chen TJ. et al. (2009) Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 33 (4): 637-41.
14. The International HapMap Project. *Nature.* 2003; 426 (6968): 789-96.
15. Bromet E. Andrade LH. Hwang I. Sampson NA. Alonso J. et al. (2011) Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Medicine.* 9:90
16. Ferrari AJ. Charlson FJ. Norman RE. Patten SB. Freedman G. et al. (2013) Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age, and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS Med* 10(11): 1-12.
17. Taylor R. (1990) Interpretation of the Correlation Coefficient: A Basic Review. *JDMS* 1:35-39.
18. Dancey C. REIDY J. (2006) *Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows.* Porto Alegre. Artmed.

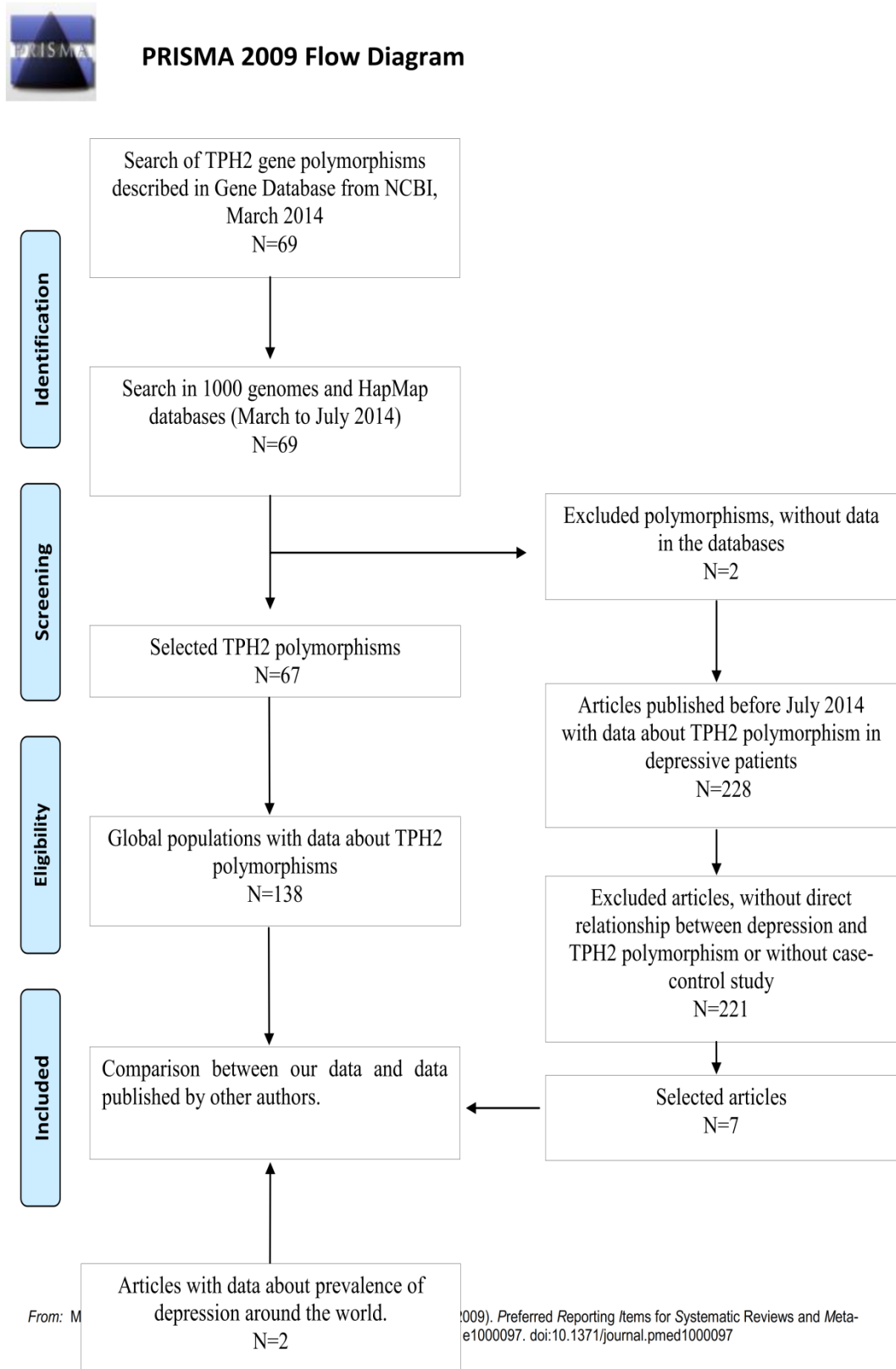
19. Corrêa MV. (2002). O Admirável Projeto Genoma Humano. *PHYSIS: Rev. Saúde Coletiva* 12(2): 277-299.
20. Clarke L. Xiangqun Zheng-Bradley X. Smith R. Kulesha E. Xiao C et al. (2012) The 1000 Genomes Project: Data Management and Community. *Access. Nat Methods* 9(5): 459–462.
21. Altshuler D. Beck J. Beiswanger C. Coppock D. et al. (2005) A haplotype map of the human genome. *Nature*. 437(7063): 1299-320.
22. Pereira P de A. Romano-Silva MA. Bicalho MA. De Marco L. Correa H. et al. (2011) Association Between Tryptophan Hydroxylase-2 Gene and Late-Onset Depression. *Am J Geriatr Psychiatry*. 19(9): 825-9.
23. Serretti A. Chiesa A. Porcelli S. Han C. Patkar AA. et al. (2011) Influence of TPH2 variants on diagnosis and response to treatment in patients with major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Psychiatry Research* 189: 26–32.
24. Shen X<sup>1</sup>. Wu Y. Qian M. Wang X. Hou Z. et al. (2011) Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population. *Journal of Affective Disorders* 133: 619–624.

## Supporting Information

**S1 Table. Allelic and genotypic frequencies and sample size from all the TPH2 SNPs available in HapMap and 1000 genomes database.** This table present all the data used in this work, including the depression rate assign for each population studied by HapMap or 1000 genome projects.

**S2 Table. TPH2 SNPs location and publications.** This table present the location of each SNP within of the genome and of the TPH2 gene. Also, those SNPs that were already published in case-control studies are highlighted in bold text and the external links for the NCBI abstracts are available in the last column.

Figura 1. Fluxograma dos procedimentos utilizados na coleta dos dados



### PARTE III

## 6. CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo demonstram que é possível de se obterem marcadores gênicos associados a doenças específicas se dados de frequências gênicas e genótípicas são analisadas estatisticamente pelo método de correlação de Pearson contra dados epidemiológicos destas doenças nas populações estudadas.

O procedimento realizado nesse trabalho poderia no entanto, ser aplicado em outras doenças ou outros genes potencialmente envolvidos no desenvolvimento de depressão.

## 7. PERSPECTIVAS

Seria importante que nas bases de dados HapMap, 1000 genomas e outros bancos de dados de variantes populacionais existisse uma ferramenta para inserir dados epidemiológicos a serem estudados e obter SNPs alvos para futuro estudos, nos aproximando a cada dia mais da promessa do sequenciamento do genoma humano.

Ao mesmo tempo, para dar mais forças à análise novas populações deveriam ser incluídas nas bases de dados acima descritas.

Também, observa-se que existem alguns polimorfismos do gene TPH2 com correlação genotípica positiva com respeito à depressão que ainda não foram estudados e que deveriam ser validados para acrescentar dados a este estudo.

Finalmente, levando em consideração a alta taxa de congruência entre os dados obtidos neste trabalho e os dados publicados na literatura este trabalho foi o início para a abertura de um leque de futuros trabalhos.

Assim, daremos continuidade ao estudo dos polimorfismos genéticos do gene do TPH2 estudando, em ensaios do tipo caso-controle, aqueles SNPs que obtiveram uma correlação genotípica positiva com respeito à depressão para poder validar os dados deste

estudo; por outro lado, outros genes envolvidos com a depressão serão testados com o mesmo sistema aqui proposto.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECASIS GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, Kang HM, Marth GT, McVean GA - **An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes**. Nature 491: 56-65, 2012. doi:10.1038/nature11632

ALTSHULER D, Beck J, Beiswanger C, Coppock D, et al.- **A haplotype map of the human genome**. Nature, 437(7063): 1299-320, 2005. doi:10.1038/nature04226

ALVARENGA G. **Psiquiatria e Neurociência** – Noradrenalina, dopamina e serotonina. 4 de fevereiro de 2010. Disponível em < <http://www.galenoalvarenga.com.br/publicacoes-livros-online/o-poder-das-emocoes/noradrenalina-dopamina-e-serotonina>>, acesso em 28/01/2015, às 17:30.

BALASUBRAMANIAN SP, Brown NJ, Reed MW - **Role of genetic polymorphisms in tumour angiogenesis**. British Journal of Cancer. 87, 1057–1065, 2002 doi:10.1038/sj.bjc.6600625 [www.bjcancer.com](http://www.bjcancer.com)

BALASUBRAMANIAN S.P., Cox . A, Brown N.J, Reed M.W – **Candidate gene polymorphisms in solid cancers**. European Journal of Surgical Oncology (EJSO) Volume 30, Issue 6, August 2004, Pages 593–601. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2004.04.001>

BICALHO, Maria Aparecida. **Estudo de polimorfismo do gene da triptofano hidroxilase 2 (TPH2) em idosos com depressão de início tardio**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia Bioquímica e Molecular). Universidade Federal de Minas Gerais, Minas gerais. 2007.

BRADY .S, Siegel.G, Albers.W.R, Price .D. - **Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**. Academic Press, 11 de nov de 2005, chapter 13 – serotonin , cap.231

CARR FD, Ana Alfirevic and Munir Pirmohamed - **Pharmacogenomics: Current State-of-the-Art**. Genes 5: 430-443, 2014. doi: 10.3390/genes5020430

CHICHON, Winge I, Mattheisen M, Georgi A, Karpushova A, Freudenberg J, Freudenberg-Hua Y, Babadjanova G, Van Den Bogaert A, Abramova LI, Kapiletti S, Knappskog PM, McKinney J, Maier W, Jamra RA, Schulze TG, Schumacher J, Propping P, Rietschel M, Haavik J, Nöthen MM. - **Brain-specific tryptophan hydroxylase 2 (TPH2): a functional Pro206Ser substitution and variation in the 5-region are associated with bipolar affective disorder**. Human Molecular genetics, v. 17, p.87-97, 2008. doi: 10.1093/hmg/ddm286

EBMEIER KP, Donaghey C, Steele JD. - **Recent developments and current controversies in depression**. Lancet 367:153-167, 2006. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)67964-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)67964-6)

FERRARI AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJ, Vos T, Whiteford HA - **Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age, and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010**. Plos Medicine, 2013. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001547

GAO J, Z Pan, Z Jiao, F Li, G Zhao, Q Wei, F Pan, E. Evangelou - **TPH2 Gene Polymorphisms and Major Depression – A Meta-Analysis**. Plos One, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0036721

GOENJIAN AK, Bailey JN, Walling DP, Steinberg AM, Schmidt D, Dandekar U, Noble EP - **Association of TPH1, TPH2, and 5 HTTLPR with PTSD and depressive symptoms**. J Affect Disord, volume 140, Issue 3, pages 244-252, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2012.02.015>



GROPPER.S , SMITH.J - **Advanced Nutrition and Human Metabolism**, 14 Feb 2008 - 624 pages, chapter 9 pag.315

GUYTON, Arthur C., HALL John E. **Fisiologia Humana e Mecanismos das doenças**. 6. ed. Rio de Janeiro: GanabaraKoogan, 1998. p. 440.

HAMET P, TREMBLAY J - **Genetics and genomics of depression**. Metabolism clinical and experimental, Volume 54 (Suppl 1): Issue 5, pages 10-15, May 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2005.01.006>

KALIA M - **Neurobiological basis of depression: an update**. Metabolism clinical and experimental, volume 54(Suppl 1): Issue 5, pages 24-27, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2005.01.009>

LESCH KP - **Gene-environment interaction and genetics of depression**. Rev Psychiatry Neurosci 29: 174-184, 2004.

MURRAY CJL, Lopez AD, (Eds.): **The Global Burden of Disease: A Comprehensive Assessment of Mortality and Disability from Diseases, Injuries, and Risk Factors in 1990 and Projected to 2020**. Cambridge, MA: Harvard University Press; 1996.

THOMPSON & THOMPSON Nusbaum, Robert ; et AL, **Genética Médica**. RJ, Elsevier, 2008

Organização Mundial de Saúde (2001) The World Health Report - **Mental Health: New understanding**, WHO, Geneve.

Organização Mundial de Saúde , 2012 - World Health Organization, Depression, Fact sheet N°369 October 2012, disponível em:< <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>>, acesso em 17/12/2014, 15:30.

PAIM, Isaías. **Curso de Psicopatologia**. 11. ed. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1994. p. 158.

PEREIRA Pde A, Romano-Silva MA, Bicalho MA, De Marco L, Correa H, de Campos SB, de Moraes EN, Torres KC, de Souza BR, de Miranda DM - **Association between tryptophan hydroxylase-2 gene and late-onset depression**. Am J Geriatr Psychiatry. 2011 Sep;19(9):825-9. doi: 10.1097/JGP.0b013e31820eeb21.

ROCHA A.P, Magalhães R.K.P; Maia A.L; Maciel Z.M.L - **Genetic polymorphisms: implications in the pathogenesis of medullary thyroid carcinoma**. Arq Bras Endocrinol Metab vol.51 no.5 SãoPaulo July 2007.

ROSSI, Luciana; TIRAPEGUI, Julio. **Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico**. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo.v. 48, n,2, 2004.

SERRETTI A, Chiesa A, Porcelli S, Han C, Patkar AA, Lee SJ, Park MH, Pae CU - **Influence of TPH2 variants on diagnosis and response to treatment in patients with major depression, bipolar disorder and schizophrenia**. Psychiatry Research, v.189, p.26–32, 2011. doi:10.1016/j.psychres.2011.02.001

SHEN X, Wu Y, Qian M, Wang X, Hou Z, Liu Y, Sun J, Zhong H, Yang J, Lin M, Li L, Guan T, Shen Z, Yuan Y - **Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population** . Journal of Affective Disorders Volume 133, Issue 3, October 2011, Pages 619–624 .

SILVA, P. **Farmacologia**. 7 edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,2006.

SULLIVAN PF, Neale MC, Kendler KS - **Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis**. American Journal of Psychiatry 157: 1552–1562, 2000.

The International HapMap Project. Nature; 426 (6968): 789-96, 2003.

TSAI SJ, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW, Chen TJ, Hou SJ, Yen FC - **Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response**. ProgNeuropsychopharmacolBiol Psychiatry, Volume 33, Issue 4. Pages 637-641, 2009

VEENSTRA -VanderWeele J, Anderson GM, Cook EH Jr. - **Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions**. European Journal of Pharmacology, v.410, p. 165-181, 2000. doi:10.1016/S0014-2999(00)00814-1

VAN DEN BOGAERT A, Slegers K, De Zutter S, Heyrman L, Norrback KF, Adolfsson R, Van Broeckhoven C, Del Favero J. - **Association of brain-specific tryptophan hydroxylase, TPH2, with unipolar and bipolar disorder in a Northern Swedish, isolated population**. Arch. Gen. Psychiatry 2006;63:1103–1110, 2006. doi:10.1001/archpsyc.63.10.1103.

XU Z, Zhang Z, Shi Y, Pu M, Yuan Y, Zhang X, Li L, Reynolds GP - **Influence and interaction of genetic polymorphisms in the serotonin system and life stress on antidepressant drug response**. J Psychopharmacol, 26: 349-359, 2012. doi: 10.1177/0269881111414452

WALTHER DJ, Peter JU, Bashammakh S, Hörtnagl H, Voits M, Fink H, Bader M - **Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform**. Science, v. 299, n. 5603, p.76, jan. 2003. DOI:10.1126/science.1078197

WEISSMAN MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG, Joyce PR, Karam EG, Lee CK, Lellouch J, Lépine JP, Newman SC, Rubio-Stipec M, Wells JE, Wickramaratne PJ, Wittchen H, Yeh EK - **Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder.** JAMA 276: 293-299, 1996. doi:10.1001/jama.1996.03540040037030

WONG ML, LICINIO J - **Research and treatment approaches to depression.** Nat Rev Neurosci 2: 343-351, 2001. doi:10.1038/35072566

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014, Os transtornos mentais, Ficha n ° 396, outubro 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/en/>>, acesso em 18/12/2014, 09:00

WURTMAN RJ - **Genes, stress, and depression.** Metabolism 54: 16-19, 2005.

ZHANG X, Nicholls PJ, Laje G, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Albert PR, Rajkowska G, Stockmeier CA, Speer MC, Steffens DC, Austin MC, McMahon FJ, Krishnan KR, Garcia-Blanco MA, Caron MG.- **A functional alternative splicing mutation in human tryptophan hydroxylase-2.** Mol. Psychiatry, v.16, p.1169-1176, 2011. doi:10.1038/mp.2010.99

ZILL P, Buttner A, Eisenmenger W, Moller HJ, Ackenheil M, Bondy B. - **Analysis of tryptophan hydroxylase I and II mRNA expression in the human brain: a post-mortem study.** J. Psychiatr. Res Jan–Feb; 2007 41(1–2):168–173.

1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM - **A map of human genome variation from population-scale sequencing.** Nature, v. 467, p. 1061–1073, out. 2010. doi:10.1038/nature09534

## 9. ANEXOS

**S1 Table. Allelic and genotypic frequencies and sample size from all the TPH2 SNPs available in HapMap and 1000 genomes database.** This table present all the data used in this work, including the depression rate assign for each population studied by HapMap or 1000 genome projects.

**S2 Table. TPH2 SNPs location and publications.** This table present the location of each SNP within of the genome and of the TPH2 gene. Also, those SNPs that were already published in case-control studies are highlighted in bold text and the external links for the NCBI abstracts are available in the last column.